

First study of age structure, growth pattern and reproductive age in populations of marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) species in the northern and southern habitats of Khuzestan province

Fahimeh saberi¹, Ashraf jazayeri^{*2}, Tayebah mohammadi³

1. M. A., Faculty of Basic Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahwaz, Iran

2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahwaz, Iran

3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahwaz, Iran

(Received: May 17, 2018 - Accepted: Oct. 14, 2019)

Abstract

Skeletocronology is a reliable method for estimating the age but in amphibians little researches have been done in this field. In the present study, for the first time in the country of Iran, the age structure of the population, growth pattern and reproductive primary age were studied in the populations of marsh frog in the northern and southern regions of Khuzestan province. For this purpose, 20 female and male marsh frog samples were fished alive in the Khuzestan province and transferred to the laboratory. After biometric studies, the specimens were prepared and after the removal of the bones of the limbs, bone samples were passaged as routine histotechnique. The number of growth stop lines and samples age were determined. In order to determine the relationship between age and body weight, body length and age with eye lens weight, the data was analyzed statistically. the maximum number of loops counted in this population is . The adult age of males of northern and southern, males of the northern and males of the southern regions was determined 2,2 and 3 years respectively. with increasing age of females, the co-integration rate of females was reduced which is explainable by the reduction in bioavailability due to the increase in biological age. According to the results, there was a significant correlation between age of animals with body and eye lens weight, but there was no significant correlation between age of animals with body length, except a limited number of males in northern regions ($P < 0.05$) There was.

Keywords: Age, Growth stop lines, Reproduction, Marsh frog, Khuzestan.

نخستین مطالعه ساختار سنی، الگوی رشد و سن اولیه تولیدمثل در جمعیت‌های گونه قورباغه مردابی (*Pelophylax ridibundus*) در زیستگاه‌های شمالی و جنوبی استان خوزستان

فهیمة صابری^۱، اشرف جزایری^{*۲}، طیبه محمدی^۳

۱. کارشناس ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳. استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۲/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۷/۲۲)

چکیده

اسکتوکرونولوژی یک روش مطمئن تعیین سن است اما در دوزیستان بی‌دم مطالعات اندکی در این زمینه صورت گرفته است. در پژوهش حاضر برای نخستین بار در سطح کشور ایران توأم با بررسی ساختار سنی جمعیت، الگوی رشد و سن اولیه تولیدمثل در میان جمعیت‌های گونه قورباغه مردابی در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان پرداخته شد. به این منظور، ۲۰ نمونه قورباغه مردابی نر و ماده به صورت زنده صید و به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از بررسی‌های بیومتریک، نمونه‌ها تشریح و پس از جداسازی استخوان‌های اندام‌های حرکتی مراحل تهیه مقاطی بافتی بر روی نمونه‌های استخوانی انجام شد. تعداد خطوط توقف رشد در برش‌های عرضی استخوان و سن نمونه‌ها تعیین گردید. به منظور تعیین رابطه بین سن با وزن بدن، طول بدن و سن با وزن عدسی چشم، اطلاعات حاصل تجزیه و تحلیل آماری شد. حداکثر تعداد حلقه‌های شمارش شده در جمعیت این گونه ۱۲ عدد بود. نرهای نواحی شمالی و جنوبی در سن ۲ سالگی، ماده‌های نواحی شمالی در سن ۲ سالگی و ماده‌های نواحی جنوبی در سن ۳ سالگی بالغ تعیین شدند. با افزایش سن ماده‌ها، میزان هم‌آوری کاهش یافت که این امر با توجه به کاهش قدرت زیستی ناشی از افزایش سن بیولوژیکی قابل توجه بود. مطابق نتایج، مشاهده شد بین سن افراد با وزن بدن و وزن عدسی چشم رابطه معنی دار وجود داشت، اما بین سن افراد با طول بدن به جز تعداد محدودی از افراد نر نواحی شمالی ارتباط معنی دار وجود نداشت.

واژه‌های کلیدی: سن، خطوط توقف رشد، تولیدمثل، قورباغه مردابی، خوزستان.

مقدمه

بسیاری از ماهی‌ها، دوزیستان و خزندگان در تمام طول عمر خود رشد می‌کنند. این رشد نامحدود در افراد جوان‌تر سرعت بیشتری دارد و ممکن است گاهی که غذا و شرایط محیطی مناسب باشد، سرعت بگیرد و زمانی که شرایط بیش‌تر استرس‌زا است مانند دوره‌های سرما، خشکی، گرما و کمبود غذا کند شود (EbrahimNejad, 2006).

روش‌های دقیق تعیین سن در بین مهره‌داران متغیر است و شامل خصوصیات پوششی، اسکلتی و حتی دستگاه عصبی است. برخی از روش‌ها در بررسی‌های میدانی برای جانوران زنده مفید هستند، درحالی‌که برخی دیگر فقط در مورد نمونه‌های غیر زنده می‌توانند به کار روند (Ebrahim Nejad, 2006). تاکنون چندین روش مختلف برای تخمین سن دوزیستان و خزندگان پیشنهاد و اجرا شده است. این روش‌ها عمدتاً بر مبنای ضخامت عدسی چشم، لوب‌دار شدن بیضه، داده‌های مربوط به میزان باروری و نشانه‌گذاری - آزادسازی و دستگیری دوباره استوار بوده است (Ashkavandi *et al.*, 2012). مطالعه رشد استخوان و ویژگی‌های بافت‌شناسی مرتبط با این فرآیند بیش‌تر در پرندگان و پستانداران مورد بررسی قرار گرفته است، در حالی‌که در این زمینه تحقیقات کم‌تری در میان دوزیستان بی‌دم صورت گرفته است (Erismis & Chinsamy, 2010). بسیاری از جمعیت‌های دوزیستان، نوسانات مشخصی را در اندازه بدن و ساختار سنی نشان می‌دهند؛ اسکلتوکرونولوژی^۱ یکی از قابل اعتمادترین روش‌هایی است که برآورد سن افراد و امکان رشد آن‌ها را فراهم می‌کند (Khonsue, 2001; Augert & Jol, 1993). در حقیقت این روش شامل تفسیر دقیقی از خطوط توقف رشد (LAGs) ثبت‌شده در بافت استخوانی است که

سن افراد را تعیین می‌کند، این روش چندین سال است که توسط محققان به‌عنوان یک روش مفید به‌خصوص در مطالعات جمعیت‌شناسی مطرح شده است (Khonsue, 2001). در این روش، سن دقیق گونه‌ها ارزیابی شده و کمک می‌کند تا درک بیش‌تری از ویژگی‌های زیستی این مهره‌داران داشته باشیم (Knapp & Matthews, 2000). Kelner & Green (1995) پیشنهاد کرده‌اند که اطلاعات مربوط به سن دوزیستان ممکن است منابع ارزشمندی در شکل‌گیری افزایش و کاهش جمعیت دوزیستان در ارتباط با آب‌وهوا و تأثیر فعالیت‌های انسانی باشند (Khonsue, 2001). اسکلتوکرونولوژی یک ابزار موثر برای تعیین سن است که بیش از ۲۰ سال به‌طور گسترده برای ارزیابی سن و رشد دوزیستان مورد استفاده قرار گرفته است (Ashkavandi *et al.*, 2012). مطالعه ساختار بافت استخوانی گونه‌های دوزیستان نشان می‌دهد، یک LAG، به‌عنوان یک سال سن تفسیر شده (Ashkavandi *et al.*, 2012). بیانگر وجود یک دوره غیر فعال در زندگی جانور است و تشکیل آن بعد از یک فصل رشد در طی زمستان خوابی ایجاد می‌شود، هم‌چنین طبق مطالعات Verrell & Halliday (1988)، خطوط توقف رشد در دوزیستان مناطق معتدل مطابق با تغییرات محیطی سالانه مانند نوسانات دما تشکیل می‌شود (Khonsue, 2001)، از طرفی در طول دوره دگردیسی، هیچ خط رشدی در استخوان‌های طولی ایجاد نمی‌شود و چنین خطوطی بعد از دوره دگردیسی شکل می‌گیرند. اگرچه این خطوط تا حدی توسط فرآیند جذب در افراد مسن تخریب می‌شوند اما این روند بر تعداد LAGها تأثیر نمی‌گذارد (Knapp & Matthews, 2000). با توجه به تغییرات شدید زیست‌محیطی و اثرات انسانی که منجر به نابودی و انقراض آن‌ها می‌شود، ضرورت شناخت، مطالعه و به‌تبع آن حفاظت از گونه‌های ارزشمند، بسیار احساس می‌شود (Abdoli, 1999)، از این رو، استان خوزستان با توجه به وسعت پهناور و

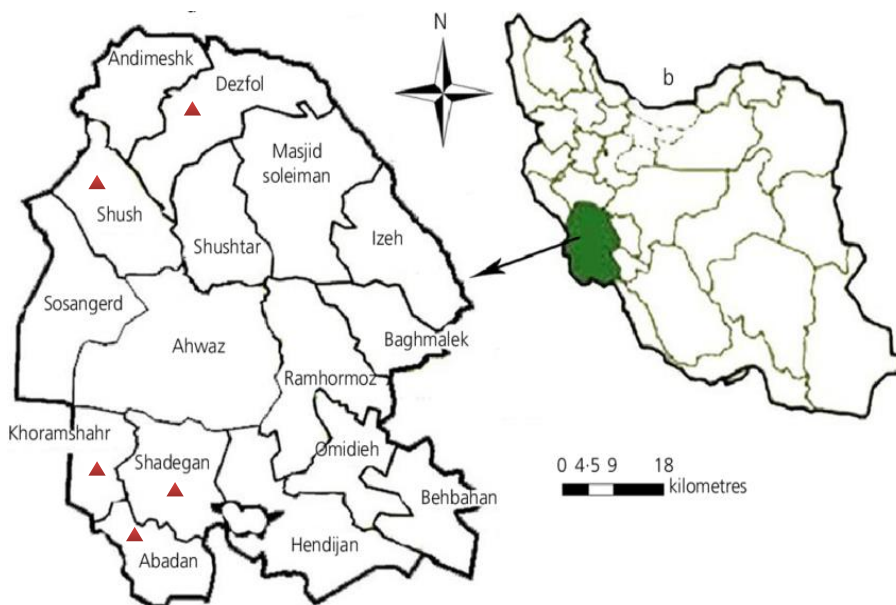
شاوور و دزفول، ۵ نر و ۷ ماده از زیستگاه‌های خرمشهر و تالاب شادگان) استان خوزستان طی فصول بهار و پاییز ۹۶-۹۵ جمع‌آوری شده و به‌وسیله کلروفورم کشته شدند. در مرحله بعد، فاکتور طول پوزه تا مخرج یا SVL (طول کل بدن) به همراه دیگر فاکتورهای مورفومتری اندازه‌گیری شد و پس از آن، عدسی چشم نیز از حدقه جدا شده و درون فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد تا ارتباط SVL و وزن عدسی چشم با سن نمونه‌ها سنجیده شود.

در آزمایشگاه تحقیقاتی بیوسیستماتیک جانوری دانشگاه شهید چمران اهواز، بلافاصله، استخوان‌های ران و درشتنی نمونه‌ها جدا گردید و پس از پاکسازی بافت‌های اطراف، استخوان‌ها به محلول فرمالین ۱۰٪ انتقال داده شدند.

تنوع اقلیمی، می‌تواند منطقه‌ای مناسب برای مطالعات زیستی دوزیستان بی‌دم باشد. لذا از آنجایی که تاکنون مطالعات جامعی بر روی ترکیب سنی و سن بلوغ جمعیت‌های قورباغه مردابی صورت نگرفته است، لذا در پژوهش حاضر به بررسی ساختار سنی جمعیت، الگوی رشد و سن اولیه تولیدمثل در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه مقاطع بافتی از استخوان به دلیل ماهیت سخت و محکمی که این بافت دارد، کار دشواری بوده و نیاز به روش‌های تکمیلی و تجربه کافی داشت. لذا برای انجام این کار، تعداد ۲۰ نمونه قورباغه مردابی (مشمتمل بر ۵ نر و ۳ ماده از زیستگاه‌های شوش،



شکل ۱. نقشه جغرافیایی استان خوزستان

جدول ۱. مشخصات مناطق مورد مطالعه

مکان جغرافیایی	منطقه مورد مطالعه	نوع اقلیم	موقعیت جغرافیایی ایستگاه‌ها
نواحی شمالی	شوش	معتدل - تپه ماهوری	32°-48' N 48°-14' E
	شاوور	معتدل - تپه ماهوری	32°-20' N 48°-30' E
	دزفول	کوهپایه‌ای - کوهستانی	32°-29' N 48°-15' E
نواحی جنوبی	خرمشهر	گرم و مرطوب - جلگه ساحلی	48°-20' N 49°-20' E
	تالاب شادگان	گرم و مرطوب - جلگه ساحلی	

خشک شده و با ترازوی دیجیتال وزن شدند. پس از وزن کردن عدسی چشم آن‌ها را در انکوباتور تهویه‌دار در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا احتمال جذب رطوبت بررسی شود. پس از آن مجدد نمونه‌ها وزن شده و ارتباط آن‌ها با سن نمونه‌ها سنجیده شد (Darvish, 2015). در جمعیت نرها نیز، پس از جداسازی و توزین بیضه‌ها شاخص گنادی^۱ (نسبت وزن بیضه‌ها به وزن کل بدن) و برای نمونه‌های ماده نیز پس از تخلیه کل بافت تخمدانی، میزان هم‌آوری^۲ (توزین قطعه کوچک تخمدانی و شمارش تخمک‌های این قطعه جهت محاسبه نسبت وزنی - عددی) محاسبه شد. هم‌چنین به منظور تعیین رابطه بین سن با وزن بدن، طول پوزه تا منخرج و وزن عدسی چشم آزمون T-test در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) سنجیده شد و میزان همبستگی سن بدن با هر یک از پارامترهای مذکور نیز سنجیده شد.

نتایج

براساس مطالعات مورفومتری مشاهده شد که در گونه *P. ridibundus* میانگین طول بدن در افراد نر نواحی شمالی برابر با ۶۳/۲۳ میلی‌متر که به‌صورت مجزا برای افراد نر ۵۴/۲۳ و برای افراد ماده ۶۲/۵۹ میلی‌متر بود و در نواحی جنوبی برابر با ۶۳/۳۰ میلی‌متر که به‌صورت مجزا برای افراد نر ۶۴/۰۹ و برای افراد ماده ۶۲/۷۴ میلی‌متر بود. بنابراین نرهای جنوب دارای میانگین طول بدن بیش‌تر در مقابل نرهای شمال هستند، اما میانگین طول بدن برای ماده‌های نواحی شمالی و جنوبی تقریباً برابر است (جدول‌های ۳ و ۴).

بررسی‌های بافت‌شناسی مقاطع تهیه‌شده از نمونه‌های استخوان‌های دراز (ران) نشان داد که این استخوان‌ها در مقطع عرضی ظاهری گرد و مدور دارند. در مقاطع یاد شده دو ناحیه، مغز استخوان که

پس از گذشت ۲ هفته، استخوان‌های مربوط به اندام‌های حرکتی به‌منظور نرم‌شدن درون محلول اسید نیتریک ۵٪ برای کلسیم‌گیری قرار گرفتند. مدت زمان کلسیم‌گیری با توجه به نوع استخوان‌ها و طول عمر حیوان متفاوت بود، به‌طوری‌که این مرحله برای استخوان‌های نازک حدود ۱۰ دقیقه و برای استخوان‌های ضخیم حدود ۵۰ دقیقه طول کشید. پس از این مرحله استخوان‌ها را به‌وسیله پنس و اسکالپل امتحان کردیم، پس از نرم شدن آن‌ها را برای خنثی شدن در محلول قلیایی (سولفات لیتیم ۵٪) به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار دادیم. سپس استخوان‌ها شستشو داده شده و متعاقباً در محلول‌های اتانول ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰٪ جهت آبگیری (هر کدام به‌مدت ۱/۵ ساعت) قرار داده شدند و بعد از پشت سر گذاشتن مراحل شفاف‌سازی درون محلول‌های گزلیل I و گزلیل II (هر کدام به‌مدت ۲۰ دقیقه) قرار داده شدند. نمونه‌ها سپس در پارافین به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند تا پارافین به‌خوبی درون بافت نفوذ کند. کار تهیه برش‌های عرضی با ضخامت ۷-۵ میکرومتر با میکروتوم دورانی (Germany-LEICA-RM2145) دوار صورت گرفت و در نهایت برش‌های تهیه شده با روش هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع بافتی آماده شده در زیر میکروسکوپ (Olympus-CX31) و مجهز به دوربین (Germany-UI-1555LE-C-) جهت بررسی‌های بافت‌شناسی مورد بررسی‌های دقیق واقع شدند. در بافت استخوانی متراکم موجود در مقاطع تهیه شده، برای اینکه تعیین شود آیا از نظر تعداد خطوط توقف رشد بین نمونه‌های نر و ماده تفاوتی وجود دارد یا خیر، اطلاعات به‌دست‌آمده به‌وسیله نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (Ashkavandi et al., 2012).

جهت یافتن ارتباط بین وزن عدسی چشم و سن افراد، عدسی چشم نمونه‌ها در مراحل سنی مختلف پس از جدا شدن به‌مدت یک هفته در فرمالین ۱۰٪ قرار گرفتند. سپس داخل کریستالیزور کاملاً آبگیری و

1. Gonadostomatic Index
2. Ficandity

شمارش شده) در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که قابل مشاهده است حداکثر تعداد حلقه‌های شمارش شده در گونه *P. ridibundus*، برابر ۱۲ عدد می‌باشد. برطبق شواهد موجود که هر حلقه در بافت استخوانی معادل یک سال زندگی است. در آن صورت در جمعیت نرهای شمالی و جنوبی پیرترین نمونه دارای ۵ سال سن از نواحی شمالی و جوان‌ترین نمونه دارای ۱ سال سن و باز هم از نواحی شمالی است. همچنین، در جمعیت ماده‌های شمالی و جنوبی پیرترین نمونه دارای ۱۲ سال سن از نواحی جنوبی و جوان‌ترین نمونه‌ها دارای ۲ سال سن و متعلق به هر دو ناحیه می‌باشند. از طرفی در نواحی شمالی فراوان‌ترین افراد جمعیت را افراد با سن ۲ و ۳ سال و در نواحی جنوبی فراوان‌ترین افراد جمعیت را افراد با سن ۴ سال تشکیل می‌دهند، این درحالی است که کم‌ترین فراوانی در هر دو ناحیه مربوط به سن بالای ۵ سال و در جنسیت ماده‌ها مشاهده شد و بدیهی است که در هر دو ناحیه مورد مطالعه تعداد کثیر جمعیت را افراد جوان تشکیل می‌دهند.

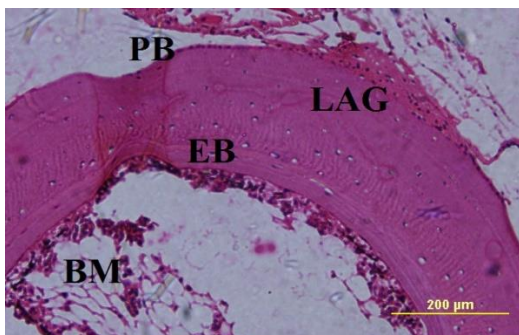
در تکمیل یافته‌های مذکور، میانگین سن در افراد نر نواحی شمالی و جنوبی یکسان و برابر با ۳ است، اما با این وجود نرهای نواحی شمالی از لحاظ سنی دارای تنوع بیشتری نسبت به نرهای نواحی جنوبی بودند. در جمعیت ماده‌ها نیز، میانگین سن افراد ماده در نواحی شمالی برابر با ۴ و میانگین ماده‌های جنوبی برابر با ۶ بود (جدول‌های ۳ و ۴).

پس از بررسی‌های بافت‌شناسی و شمارش حلقه‌های سالیانه در بافت استخوانی، با استفاده از آنالیزهای آماری؛ ابتدا میزان هم‌بستگی سن با W ، SVL و وزن عدسی چشم (افزایش ضخامت عدسی چشم نیز از جمله روش‌های مختلفی است که برای تخمین سن دوزیستان و خزندگان پیشنهاد شده است *Ashkavandi et al.* (2012)، در هر دو ناحیه مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار Spss در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ سنجیده شد (جدول‌های ۳ و ۴)، سپس ارتباط بین W با سن، SVL با سن و همچنین وزن عدسی چشم با سن افراد در هر

ناحیه داخلی بوده و شامل بافت خون‌ساز است در پیرامون بافت استخوانی متراکم که به صورت حلقه‌ای بخش داخلی را احاطه کرده است قابل مشاهده بود. ناحیه پریوست استخوان، در بخش بافت استخوانی متراکم به صورت لایه نازکی در خارجی‌ترین قسمت قرار گرفته است. در زیر این لایه نازک، بافت اصلی استخوان با ضخامتی بسیار بیشتر از سایر قسمت‌ها، بین پریوست و آندوست وجود دارد که در آن سلول‌های استخوانی با استئوسیت‌ها در لاکوناها مشاهده می‌شوند (شکل ۲). در واقع تیغه‌های مربوط به سیستم هاورس که دارای مجاری هاورس نیز می‌باشند، دربرگیرنده لاکوناها هستند که خود لاکوناها دربرگیرنده یک تا چند سلول می‌باشند. این بخش از بافت استخوانی دارای حلقه‌هایی (LAG) می‌باشد که تعداد آن‌ها برحسب سن نمونه متفاوت است (شکل ۲). این حلقه‌ها به واسطه تیره‌تر بودن رنگ‌شان، به راحتی از سایر بخش‌های بافت استخوان قابل تمییز هستند. در زیر این بخش و در حقیقت در داخلی‌ترین بخش بافت استخوانی، آندوست قرار گرفته و نسبت به بافت اصلی استخوان دارای ضخامت کمتری است (شکل ۲)، درون این بخش نیز حلقه‌هایی قابل مشاهده است اما برطبق قرارداد، جزء حلقه‌های سالیانه محسوب نمی‌شوند. با استفاده از میکروسکوپ نوری، شمارش حلقه‌های موجود در بافت اصلی استخوان که به نام خطوط توقف رشد یا LAGها شناخته می‌شوند، نشان داد؛ در هر دو ناحیه شمالی و جنوبی استان خوزستان، تعداد خطوط در نمونه‌های مختلف متفاوت است؛ به عنوان مثال در نمونه‌ای از جنس نر مربوط به نواحی شمالی که در آن SVL برابر با ۴۵/۲۵ میلی‌متر بود، در بافت استخوانی تعداد ۱ حلقه مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳)، درحالی‌که در نمونه‌ای از جنس ماده نواحی جنوبی که دارای SVL برابر با ۵۴/۱۸ میلی‌متر بود، تعداد ۸ حلقه مشاهده شد (شکل ۳).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری‌ها به همراه درصد فراوانی هریک از گروه‌های سنی (با توجه به تعداد حلقه

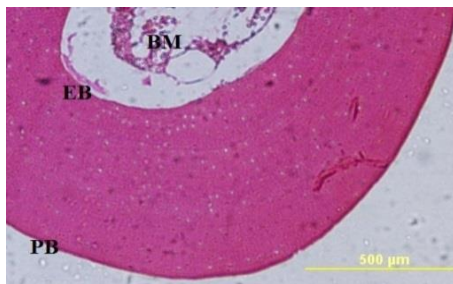
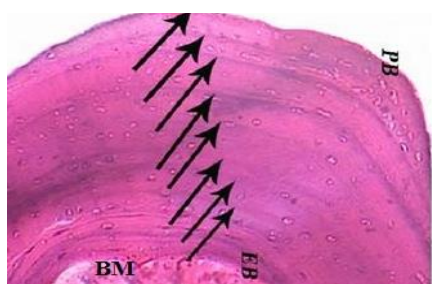
و وزن بدن را به طور همزمان در نظر بگیریم، می‌توان چنین نتیجه گرفت که در نواحی شمالی نرهای ۲ ساله با طول ۵۴/۳۰ میلی‌متر و وزن ۲۰/۴۰ و نرهای نواحی جنوبی نیز با سن ۲، طول بدن بین ۵۳ تا ۵۶ میلی‌متر و وزن بدن بین ۲۱ تا ۳۰ گرم بالغ محسوب می‌شوند. در ارتباط با ماده‌های نواحی شمالی مشاهده شد که افراد با سن ۲ سال بالغ محسوب شدند. همچنین بیش‌ترین میزان هم‌آوری در ماده‌های شمالی مربوط به افراد ۷ ساله و در ماده‌های نواحی جنوبی متعلق به ماده‌های ۳ ساله بود. بنابراین ماده‌های نواحی جنوبی با طول بدن ۶۰/۱۱ میلی‌متر و وزن بدن ۱۹/۹۳ گرم بالغ محسوب می‌شوند. اما در مورد ماده‌های نواحی جنوبی، از آنجایی که افراد ۲ ساله دارای میزان هم‌آوری کم‌تری نسبت به ماده‌های شمالی بوده و در سن ۳ سالگی، میزان هم‌آوری به‌طور تقریبی ۳ برابر شده است، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ماده‌های با سن ۳ سال، با طول بدن ۷۴/۷۸ میلی‌متر و وزن بدن ۳۳/۲۵ گرم بالغ محسوب می‌شوند. همچنین در بین ماده‌های نواحی مشاهده می‌شود که میزان هم‌آوری با افزایش سن روند افزایشی داشته است، اگرچه این روند پس از ۴ سالگی دارای شیب کم‌تری است. از سوی دیگر با افزایش سن ماده‌ها پس از ۱۱ سالگی با افت میزان هم‌آوری مواجه بودیم که این امر با توجه به کاهش قدرت زیستی ناشی از افزایش سن بیولوژیکی قابل توجیه است.



شکل ۲. برشی از قسمت‌های تشکیل‌دهنده بافت استخوان. مغز استخوان BM، آندوست استخوان EB، پرئوست استخوان PB، حلقه یا خطوط توقف رشد LAG، رنگ آمیزی H&E.

دو جنسیت نر و ماده به‌طور مجزا برای نواحی شمالی و جنوبی در شکل‌های (۴ تا ۹) با استفاده از نرم‌افزار اکسل منعکس شده است. با توجه به نمودارها مشاهده شد که بین سن افراد با W و وزن عدسی چشم رابطه معنی‌دار از لحاظ آماری و مستقیم وجود دارد که البته این روابط مستقیم بین W و سن بیشتر مشهود است و با افزایش سن، وزن افراد نیز افزایش یافته است، با توجه به شکل ۴ مشاهده شد که اگرچه همراه با افزایش سن وزن افراد نیز افزایش یافته است اما وزن نیز تا حدی افزایش یافته و پس از آن به مقدار ثابتی رسیده است. با توجه به جدول‌های ۵ و ۶ نیز مشاهده می‌شود که نمونه‌های هر دو ناحیه شمال و جنوب هم‌بستگی تقریباً برابری در سن و وزن کل بدن دارند، این درحالی است که نمونه‌های نواحی شمالی هم‌بستگی کم‌تری بین سن و وزن عدسی چشم در مقایسه با نمونه‌های نواحی جنوب دارند. در مقابل این هم‌بستگی‌ها، با توجه به شکل‌های ۹ و ۱۰ مشاهده شد که بین SVL و سن افراد در هر دو ناحیه مورد مطالعه به‌جز تعدادی از افراد نر نواحی شمالی، ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

از طرفی براساس سن افراد، همچنین میزان شاخص گنادی و هم‌آوری می‌توان سن بلوغ را برای نمونه‌ها بدین صورت بیان کرد؛ در جمعیت نرهای هر دو ناحیه شمال و جنوب استان خوزستان مشاهده شد که، به دلیل افزایش دو برابری میزان شاخص گنادی همراه با افزایش وزن و طول بدن، سن بلوغ در افراد نر هر دو ناحیه ۲ سالگی می‌باشد. افزون بر آن، بیش‌ترین میزان شاخص گنادی در نمونه‌های شمالی و جنوبی متعلق به نرهای ۴ ساله بود. در نواحی شمالی با حداکثر شاخص گنادی، طول بدن برابر با ۸۳/۱۵ میلی‌متر و وزن بدن برابر با ۴۳/۷۶ گرم بود، همچنین در نواحی جنوبی با حداکثر شاخص گنادی، طول بدن برابر با ۶۶/۵۴ میلی‌متر و وزن بدن برابر با ۳۸/۳۳ گرم مشاهده شد (جدول‌های ۴ و ۵). بنابراین، چنانچه صفات شاخص گنادی، طول



شکل ۳. فتوگراف‌های حاصل از بافت استخوانی، در تصویر ۱، تنها یک حلقه مشاهده می‌شود. در حالی که بافت استخوانی تصویر ۲، تعداد ۸ حلقه مشاهده می‌شود. بزرگنمایی تصویر ۲ برابر ۱۰۰×. رنگ آمیزی H&E.

جدول ۲. اطلاعات مربوط به تعداد نمونه‌ها (S.N)، تعداد خطوط توقف رشد شمارش شده (L.N) و درصد فراوانی نمونه‌های جمع‌آوری شده (%) در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان متعلق به گونه *P. ridibundus*

شماره نمونه (S.N)	نواحی شمالی		شماره نمونه (S.N)	نواحی جنوبی	
	خطوط توقف رشد (L.N)	درصد فراوانی (%)		خطوط توقف رشد (L.N)	درصد فراوانی (%)
		کل ناحیه			کل ناحیه
۱	۱	۵ / ۰.۵	۲	۲	۱۰ / ۱۶.۶۶
۲	۲	۱۰ / ۲۵	۲	۳	۱۰ / ۱۶.۶۶
۲	۳	۱۰ / ۲۵	۵	۴	۲۵ / ۶۲.۵
۱	۴	۵ / ۰.۵	۱	۸	۵ / ۸.۳۳
۱	۵	۵ / ۰.۵	۱	۱۱	۵ / ۸.۳۳
۱	۷	۵ / ۰.۵	۱	۱۲	۵ / ۸.۳۳

جدول ۳. اطلاعات مربوط به افراد نر و ماده، همراه با میزان شاخص گنادی و میزان هم‌آوری در نواحی شمالی استان متعلق به گونه *P. ridibundus*

Gender	W	SVL	GSI / Ficandity	Age
Male	۲۸/۲۵	۵۵/۹۴	۰.۳۵	۳
Male	۴۰/۲۱	۷۷/۷۹	۰.۴۴	۵
Male	۲۰/۴۰	۵۴/۳۰	۰.۲۴	۲
Male	۴۳/۷۶	۸۳/۱۵	۰.۴۷	۴
Male	۸/۰.۲	۴۵/۲۵	۰.۱۵	۱
Female	۵۶/۵۹	۵۳/۲۱	۸۶۲۱	۷
Female	۳۴/۵۸	۷۴/۴۷	۴۹۶۸	۳
Female	۱۹/۹۳	۶۰/۱۱	۲۱۱۷	۲
Mean	۳۱/۴۶	۶۲/۹۹	۰.۳۳-۵۲۳۵	۴

جدول ۴. اطلاعات مربوط به افراد نر و ماده، همراه با میزان شاخص گنادی و میزان هم‌آوری در نواحی جنوبی استان متعلق به گونه *P. ridibundus*

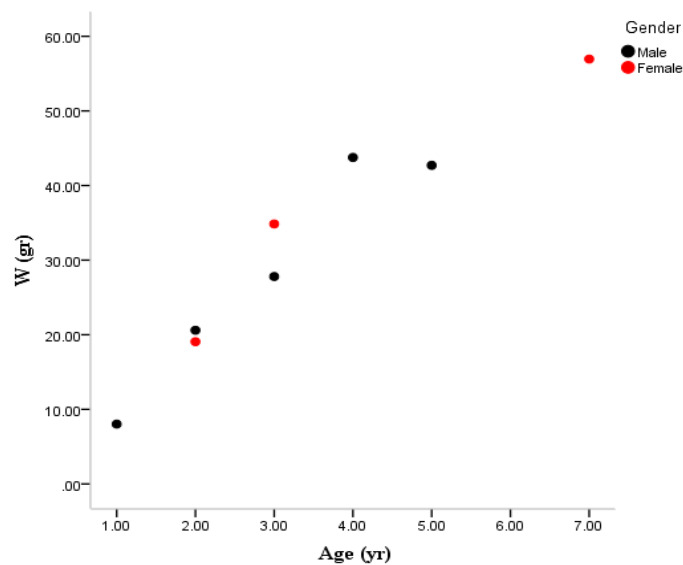
Gender	W	SVL	GSI / Ficandity	Age
Male	۳۴/۵۲	۷۶/۲۳	۰.۳۹	۴
Male	۲۴/۱۸	۶۸/۲۲	۰.۳۷	۳
Male	۲۱/۸۵	۵۶/۲۷	۰.۲۴	۲
Male	۳۰/۲۰	۵۳/۲۱	۰.۲۹	۲
Male	۳۸/۳۳	۶۶/۵۴	۰.۴۱	۴
Female	۱۸/۷۳	۵۵/۶۵	۱۴۷۰	۲
Female	۵۹/۹۳	۵۴/۱۸	۷۴۵۲	۸
Female	۶۵/۷۱	۵۶/۷۱	۷۵۲۳	۱۱
Female	۳۳/۲۵	۷۴/۷۸	۳۴۷۲	۳
Female	۲۴/۰.۱	۶۴/۸۸	۲۷۰۰	۲
Female	۴۲/۵۱	۷۴/۷۰	۴۳۳۱	۴
Female	۶۶/۵۷	۵۸/۳۱	۶۴۳۷	۱۲
Mean	۳۸/۳۱	۶۳/۳۰	۴۷۶۷ - ۰.۳۴	۵

جدول ۵. میزان هم‌بستگی سن با هر کدام از پارامترهای وزن بدن، طول بدن و وزن عدسی چشم در نواحی شمالی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*

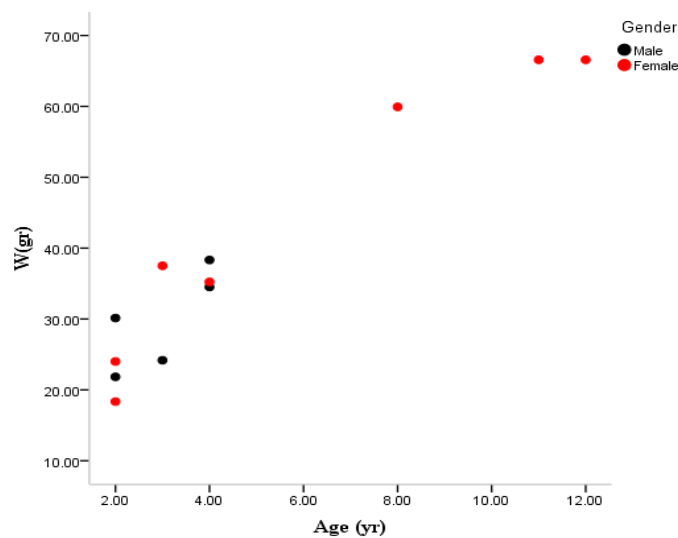
	Characters	W	SVL	W. Lens
Age	Pearson Correlation	۰/۹۶	۰/۳۱	۰/۸۰
	Sig (2- tailed)	p<۰/۰۰۰۱	۰/۳۹	p<۰/۰۰۰۱

جدول ۶. میزان هم‌بستگی سن با هر کدام از پارامترهای وزن بدن، طول بدن و وزن عدسی چشم در نواحی جنوبی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*

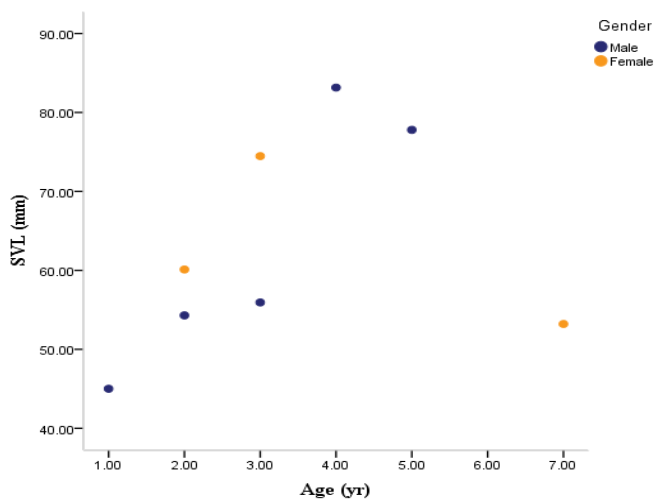
	Characters	W	SVL	W. Lens
Age	Pearson Correlation	۰/۹۵	-۰/۲۷	۰/۹۳
	Sig (2- tailed)	p<۰/۰۰۰۱	۰/۳۹	p<۰/۰۰۰۱



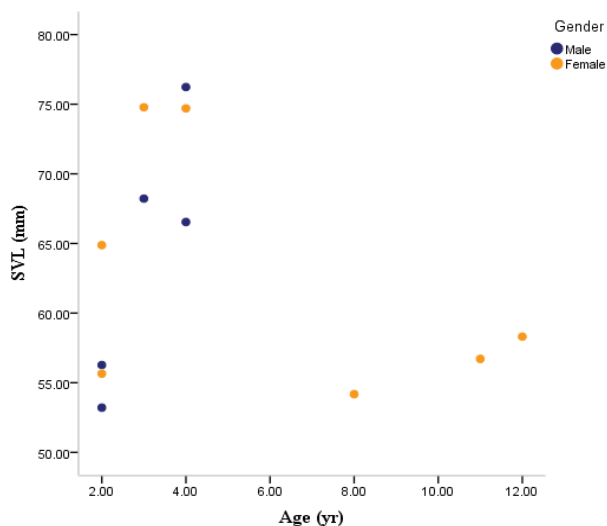
شکل ۴. ارتباط بین وزن بدن (میانگین \pm انحراف استاندارد) و سن افراد در نواحی شمالی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*



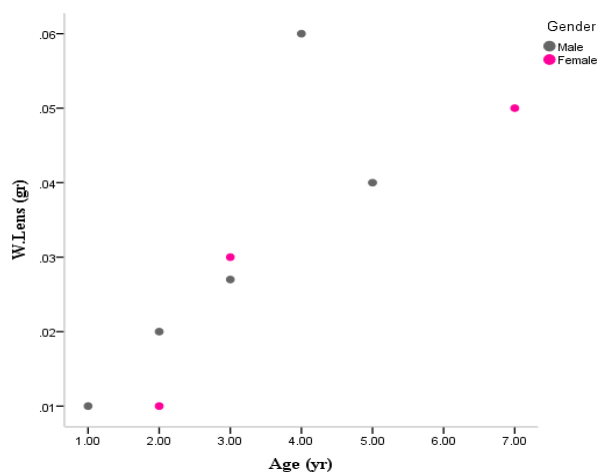
شکل ۵. ارتباط بین وزن بدن (میانگین \pm انحراف استاندارد) و سن افراد در نواحی شمالی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*



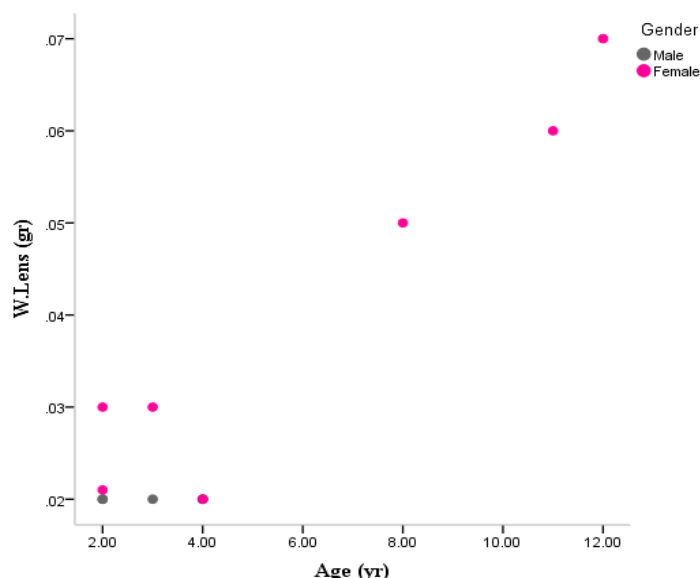
شکل ۶. ارتباط SVL (میانگین \pm انحراف استاندارد) و سن افراد در نواحی شمالی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*



شکل ۷. ارتباط SVL (میانگین \pm انحراف استاندارد) و سن افراد در نواحی جنوبی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*



شکل ۸. ارتباط وزن عدسی چشم (میانگین \pm انحراف استاندارد) و سن افراد در نواحی شمالی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*



شکل ۹. ارتباط وزن عدسی چشم (میانگین \pm انحراف استاندارد) و سن افراد در نواحی جنوبی استان خوزستان، متعلق به گونه *P. ridibundus*

بحث و نتیجه گیری

هدف از انجام پژوهش حاضر، مطالعه بافت استخوانی و مقایسه پارامترهای سن اولیه تولیدمثل، طول عمر، ساختار سنی و الگوی رشد است تا تأثیر شرایط اقلیمی و اکولوژیکی را بر جمعیت‌ها بیازمائیم.

با توجه به مطالعات صورت گرفته و مطالب ذکر شده، اگر هر LAG معرف گذشت یک سال از عمر جانور باشد، در این صورت در پژوهش حاضر جمعیت‌های گونه *P. ridibundus* در نواحی شمالی و جنوبی استان خوزستان به ترتیب بین ۷-۱ سال (جوان‌ترین مربوط به جنس نر و مسن‌ترین مربوط به جنس ماده) و ۱۲-۲ سال (جوان‌ترین مربوط به نر و مسن‌ترین مربوط به جنس ماده) سن داشتند. بر این اساس، فراوان‌ترین افراد جمعیت نواحی شمالی را نمونه‌های ۲ و ۳ ساله و نواحی جنوبی را نمونه‌های ۴ ساله تشکیل می‌دهند. از طرفی، حداکثر طول عمر مشاهده شده در میان جمعیت شمالی ۷ سال و در نواحی جنوبی ۱۲ سال بود. سن بلوغ جنسی در میان نرها و ماده‌های جمعیت نواحی شمالی ۲ سالگی و برای نرها و ماده‌های نواحی جنوبی نیز به ترتیب ۲ سالگی و ۳ سالگی است. بر

اساس مطالعات، طول عمر این گونه در جمعیت ساکن مخمل کوه خرم‌آباد ۱۱ سال بود (Ashkavandi et al., 2012). Guarino et al. (2008)، ساختار سنی جمعیت گونه *Rana temporaria* را در شمال ایتالیا مطالعه کردند و طبق نتایج، میانگین سن نرها ۳ سال و برای ماده‌ها ۶ سال بود، حداکثر طول عمر در هر دو جنس ۱۰ سال گزارش شد و هم‌چنین سن بلوغ جنسی در ماده‌ها سال دوم و برای نرها سال سوم بود، نتایج جمعیت فوق نشان داد که ماده‌ها مسن‌تر از نرها بودند. نتایج حاصل از هم‌بستگی نیز بیان دارد، بین اندازه بدن و سن نمونه‌ها رابطه وجود ندارد، طبق نتایج در جمعیت گونه مذکور جدایی جنسی قابل شهود است، لذا از آنجایی که ماده‌ها بزرگ‌تر از نرها بودند و سن رسیدن به بلوغ جنسی نیز در نرها و ماده‌ها متفاوت است، می‌توان بیان داشت که رشد جمعیت ماده‌ها نسبت به نرها سریع‌تر بوده و بنابراین نرخ سن رسیدن به بلوغ جنسی در جنسیت نر و ماده متفاوت است. نتایج حاصل از مطالعه جمعیت همین گونه در سوئیس نشان داد؛ سن بلوغ بین جنسیت‌ها مشابه است که این به دلیل رشد هماهنگ و تقریباً

و مسن‌ترین افراد ماده‌ها ۶ ساله بودند. از آنجایی که طیف وسیعی از اندازه‌های بدن در میان افراد یک ساله مشاهده شده است، علت این امر را می‌توان طولانی شدن دوره دگرذیسی دانست (Esteban, 1996). مطالعه اثر ارتفاع بر اندازه بدن، سن و نرخ رشد در ۵ جمعیت از گونه *Pelophylax pleurade* در منطقه سیچوان^۳ از ارتفاع ۱۴۱۳ تا ۱۹۳۵ بیانگر آن بود که بین اندازه بدن با افزایش ارتفاع از سطح دریا رابطه مستقیم وجود ندارد، از طرفی، اندازه بدن بر روی سن تأثیری نداشته، سرعت رشد بدن پس از دگرذیسی با ارتفاع زیاد هم‌خوانی ندارد و در ۵ جمعیت مورد مطالعه ماده‌ها زودتر از نرها رشد می‌کنند (Adams & Church, 2008). این نتایج با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر زیادتر بودن طول عمر افراد در نواحی جنوبی علی‌رغم ارتفاع کمتر از سطح دریا نسبت به نواحی شمالی و عدم هم‌بستگی بین اندازه بدن و سن افراد و هم‌چنین وزن بیشتر ماده‌ها در هر دو ناحیه هم‌خوانی دارد. بنابراین می‌توان این‌گونه استنباط کرد که برای جمعیت ماده‌ها و نرها عواملی مانند تخصیص یافتن انرژی بین رشد و تولیدمثل وجود داشته که تأثیر سن بر اندازه بدن را از بین می‌برد (Adams & Church, 2008). مطابق برخی مطالعات، طول عمر بعضی از گونه‌ها از جمله *Pelophylax ridibundus* در نواحی شمالی و کوهستانی نسبت به نواحی جنوبی و پست‌تر معمولاً بیشتر است و این روند از قانون برگمان^۴ پیروی می‌کند (Ashkavandi et al., 2012)، اما این یافته با نتایج حاصل از مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد، از طرفی وجود گزارش‌های اخیر حمایت متضاد از این الگو را پشتیبانی می‌کند؛ طی مطالعه جمعیت‌هایی از گونه‌های دوزیستان، تنها در سه گونه هم‌بستگی معناداری بین اندازه بدن و دما مطابق با قانون برگمان مشاهده شد، درحالی‌که در ۳۷

هم‌زمان در نرها و ماده‌ها قبل از رسیدن به مرحله دگرذیسی بوده است و از این لحاظ جدایی جنسیتی قابل مشاهده نیست (Guarino, 2008). در مطالعه دیگری در میان دوزیستان بی‌دم شواهد نشان داد که سن ماده‌ها بیش‌تر از نرها بوده است و این مورد احتمالاً می‌تواند مربوط به انتخاب طبیعی باشد (Knapp & Matthews, 2000).

لذا از آنجایی‌که مطابق نتایج حاضر نیز ماده‌ها مسن‌تر از نرها هستند و بین اندازه بدن و سن هم‌بستگی وجود ندارد، یافته ما با یافته مطالعه قبل هم‌خوانی دارد.

ساختار سن دو جمعیت از گونه *Rana nigromaculata* در دو منطقه کاتاتا^۱ و شیزوهارا^۲ در ژاپن نشان داد؛ در هر دو جمعیت سن بلوغ جنسی برای نرها سال سوم و برای ماده‌ها سال دوم بود. در هر دو جمعیت سن بیش‌تر مربوط به ماده‌ها بود، در جمعیت کاتاتا اندازه بدن ماده‌ها بیش‌تر از نرها بود، درحالی‌که در شیزوهارا اندازه بدن در نرها بیش‌تر بوده است (Khonsue, 2001)، در مطالعه حاضر نیز میانگین اندازه بدن در هر جمعیت برای نرها بیش‌تر از ماده‌ها بود و در نهایت به نظر می‌رسد اختلاف بین جمعیت‌ها در ویژگی‌های سن و اندازه بدن، به میزان رقابت بین جمعیتی و مصرف غذا بستگی دارد و رقابت فردی در کاتاتا ممکن است از طریق اصلاح مصنوعی برخی مزارع که محل سکونت این گونه است تقویت شده باشد (Khonsue, 2001). ساختار و مطالعه هیستولوژی رشد سالانه استخوان در جمعیتی از گونه *Rana perezi* از یک منطقه آب‌وهوایی گرم و معتدل (جنوب‌غربی اسپانیا) به‌طور چشم‌گیر از الگوی مشاهده‌شده در جمعیت‌های دارای هوای سردتر پیروی می‌کند. در این جمعیت بعضی از نرها در یک سالگی و برخی ماده‌ها در سه سالگی به سن بلوغ جنسی رسیده‌اند، مسن‌ترین افراد جمعیت نرها ۴ ساله

3. Sichuan

4. Bergmann's rule

1. Katata

2. Shizuhara

برای تمامی جمعیت‌ها سال دوم زندگی، طول عمر افراد و سال بود و از همه مهم‌تر بین اندازه بدن، وزن افراد و سن آن‌ها رابطه مستقیم وجود داشت که این یافته تنوع درون گونه‌ای وابسته به دامنه ارتفاع در ساختار سن و اندازه‌گیری‌های مورفومتریک را بیان می‌کند (Bascale *et al.*, 2017). در مقابل این پژوهش، مطالعه جمعیت گونه *Pelophylax caralitanus* از سال ۲۰۱۱ تا ۲۰۱۳ نشان داد؛ نرهای بالغ ۹-۲ ساله دارای اندازه بدن ۶۶ تا ۱۰۵ میلی‌متر و ماده‌های بالغ ۱۰-۲ ساله دارای اندازه بدن ۶۵ تا ۱۱۰ میلی‌متر بودند. سن تولیدمثل در دومین تابستان پس از دگرذیسی بوده و این ۴ جمعیت تفاوت در میزان رشد و سن بلوغ جنسی را نشان دادند که به نظر می‌رسد تفاوت میانگین ماهانه و طول فصل رشد، به جای ارتفاع از سطح دریا می‌تواند عامل آن باشد، به‌عنوان مثال: دمای گرم و فصل رشد طولانی‌تر، باعث افزایش وزن افراد بالغ می‌شود (Ivanova, 2017).

گونه از ۴۰ مورد مطالعه این روند مشاهده نشد. علاوه بر این، مطابق تجزیه و تحلیل تطبیقی فیلوژنتیک هیچ ارتباطی بین اندازه بدن و درجه حرارت در میان گونه‌ها یافت نشد و نتیجه می‌گیریم که قانون برگمان به‌طور کلی برای دوزیستان با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد آن‌ها قابل اجرا نیست (Adams & Church, 2008). این موضوع می‌تواند بیش‌تر بودن میانگین اندازه بدن را در جمعیت نواحی جنوبی توجیه کند. مطالعه جمعیت گونه *Rana caralitana* در ترکیه نشان از وجود هم‌بستگی معنادار بین طول عمر، تغییرات رشد بدن و اپیفیز غضروف بود که این یافته وجود هم‌بستگی معنادار بین وزن بدن و سن افراد را استنتاج می‌کند (Erismis & Chinsamy, 2010). از سوی دیگر مطالعه ۱۳۳ نمونه استخوان در ۳ جمعیت از گونه *Pelophylax bedriagae* نشان داد؛ با وجود متفاوت بودن وزن افراد، هیچ تفاوتی از لحاظ سن بین آن‌ها مشاهده نشد. در این مطالعه سن بلوغ

REFERENCES

- Abdoli, A. (1999). Iranian domestic fish, Role Publication Mana, Museum of Nature and Wildlife of Iran, First Edition; Vi: 377pp.
- Adams, D. C.; Church, J. O. (2008). Amphibians do not follow Bergmann's rule, *Evolution*; 62 (2): 413-420.
- Ashkavandi, S.; Gharzi, A.; Abbasi, M. (2014). Comparison of age composition in tow populations of pleural effusion of amphibian species using skeletokronology method. *Journal of Animal Research*; 27 (2): 176-184.
- Augert, D.; Joly, P. (1993). Plasticity of age at maturity between two neighbouring populations of the common frog (*Rana temporaria* L.). *Canadian Journal Zoology*; 71 (1): 26-33.
- Başkale, E.; Ulubeli, A. S.; Kaska, Y. (2017). Age structures and Growth Parameters in three populations of Levanten Frog (*Pelophylax bedriagae*), *Journal of Zoology*; 5 (8): 16-26.
- Darvish, G. (2015). Methodology in biosystematics animal, Ferdowsi University Press Mashhad; Vi: 234, 235pp.
- EbrahimNejad, M. (2006). Vertebrate Biology, University Publishing Center, Second Edition; Vi: 17pp.
- Erismis, U. C.; Chinsamy, A. (2010). Ontogenetic changes in the epiphyseal cartilage of *Rana (Pelophylax caralitana)* (Anura: Ranidae), *The Anatomical Record*; 293: 1825-1837.
- Esteban, M.; García-París, M.; Castanet, J. (1996). Use of bone histology in estimating the age of frogs (*Rana perezii*) from a warm temperate climate area, *Canadian Journal of Zoology*; 74(10): 1914-1921.
- Guarino, F. M.; Di Già, I.; Sindaco, R. (2008). Age structure in a declining population of *Rana temporaria* from northern Italy, *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*; 54 (1): 99-1.
- Ivanova, N. L. (2017). Growth

- characteristics and rates of the marsh frog *Pelophylax ridibundus* Pall. introduced into water bodies of the Middle Urals, *Biology Bulletin*; 44 (4): 4-416.
- Khonsue, W.; Matsui, M.; Hirai, T.; Misawa, Y. (2001). A comparison of age structures in two populations of a pond frog *Rana nigromaculata* (Amphibia: Anura), *Zoological Science*; 18(4): 597-603.
- Knapp, R. A.; Matthews, K. R. (2000). Non-native introductions and the decline of the Mountain Yellow-Legged frog from within protected areas, *Conserv Biologica*; 14: 428-438.